

NASKAH PUBLIKASI SKRIPSI

**OPTIMASI KOMBINASI KARBOPOL 940 DAN HIDROKSIPROPIL
METILSELULOSA (HPMC) TERHADAP EFEKTIVITAS GEL
ANTISEPTIK FRAKSI ETIL ASETAT DAUN KESUM
(*Polygonum minus* Huds.) DENGAN METODE
*SIMPLEX LATTICE DESIGN***



Oleh :

DEASY NATASYA

I 211 09 057

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA
PONTIANAK
2013**

NASKAH PUBLIKASI SKRIPSI

**OPTIMASI KOMBINASI KARBOPOL 940 DAN HIDROKSIPROPIL
METILSELULOSA (HPMC) TERHADAP EFEKTIVITAS GEL
ANTISEPTIK FRAKSI ETIL ASETAT DAUN KESUM
(*Polygonum minus* Huds.) DENGAN METODE
*SIMPLEX LATTICE DESIGN***

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memeperoleh Gelas Sarjana Farmasi (S.Farm) pada
Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura Pontianak**



OLEH

**DEASY NATASYA
I 211 09 057**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA
PONTIANAK
2013**

NASKAH PUBLIKASI

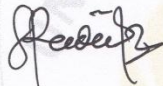
OPTIMASI KOMBINASI KARBOPOL 940 DAN HIDROKSIPROPIL
METILSELULOSA (HPMC) TERHADAP EFEKTIVITAS GEL
ANTISEPTIK FRAKSI ETIL ASETAT DAUN KESUM
(*Polygonum minus* Huds.) DENGAN METODE
SIMPLEX LATTICE DESIGN

DISUSUN OLEH :
DEASY NATASYA
NIM : I 211 09 057

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura
Tanggal : 28 November 2013

Disetujui,

Pembimbing Utama,



Hj. Sri Wahdaningsih, M.Sc., Apt.
NIP. 198111012008012011

Pembimbing Pendamping,



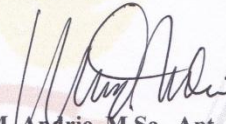
Siti Nani Nurbaeti, M.Si., Apt.
NIP. 198411302008122004

Penguji I,



Andhi Fahrurroji, M.Sc., Apt
NIP. 198408192008121003

Penguji II,



M. Andrie, M.Sc., Apt
NIP. 198105082008011008

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura



dr. Bambang Sri Nugroho, Sp.PD
NIP. 195112181978111001

**OPTIMASI KOMBINASI KARBOPOL 940 DAN HIDROKSIPROPIL
METILSELULOSA (HPMC) TERHADAP EFEKTIVITAS GEL
ANTISEPTIK FRAKSI ETIL ASETAT DAUN KESUM
(*Polygonum minus* Huds.) DENGAN METODE
SIMPLEX LATTICE DESIGN**

Deasy Natasya¹, Sri Wahdaningsih², Siti Nani Nurbaeti³
^{1,2,3}Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura

ABSTRAK

Daun Kesum (*Polygonum minus* Huds.) merupakan tanaman yang telah diteliti memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk memaksimalkan penggunaan daun kesum dengan mengetahui apakah fraksi etil asetat daun kesum memiliki aktivitas antibakteri dan bagaimana efektivitasnya setelah diformulasi menjadi sediaan gel dengan kombinasi optimum dari basis HPMC dan Karbopol 940 menggunakan metode *Simplex Lattice Design* (SLD). Ekstraksi daun kesum dilakukan dengan metode maserasi, kemudian dilakukan fraksinasi menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan metanol. Uji efektivitas dilakukan terhadap fraksi etil asetat dengan melihat daya hambat fraksi berdasarkan pengukuran zona bening. Uji menggunakan *One Way ANOVA* pada konsentrasi 5%, 10% dan 15% menunjukkan bahwa konsentrasi 10% memberikan daya hambat optimum dan selanjutnya diformulasi menjadi sediaan gel. Berdasarkan hasil pengujian gel A (100% karbopol - 0% HPMC); gel B (0% karbopol - 100% HPMC); dan gel C (50% karbopol – 50% HPMC) didapatkan komposisi terbaik yaitu 100% karbopol 940 – 0% HPMC. Data dianalisis secara statistik menggunakan program SPSS seri 17, dengan nilai signifikansi $p > 0,05$ metode SLD dapat digunakan untuk memprediksikan formulasi optimum gel. Perbandingan dengan kontrol positif didapat nilai signifikansi $p > 0,05$ menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan antara gel optimum dan kontrol positif. Berdasarkan hasil uji dengan *Paired sample t test* dihasilkan nilai signifikansi $p < 0,05$. Hal ini menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan antara daya hambat fraksi etil asetat sebelum dan setelah diformulasi dalam bentuk gel. Gel formula optimum memiliki sifat fisik dan kimia yang baik.

Kata Kunci : Daun kesum, Fraksi etil asetat, Gel, *Simplex Lattice Design*

**Optimizing Combination Carbopol 940 and Hydroxypropyl Methyl Cellulose
(HPMC) Toward Effectiveness of Antiseptic Gel Kesum Leave
(*Polygonum minus* Huds.) Ethyl Acetate Fraction by
Simplex Lattice Design Method**

ABSTRACT

Kesum (*Polygonum minus* Huds.) leaves have been investigated have antibacterial activity. This research was done to optimize the exploration of kesum plant by knowing that the ethyl acetate fraction of Kesum had antibacterial activity and how it's effectiveness after it was formulated in gel with the optimum combination of HPMC and Carbopol 940 by the *Simplex Lattice Design* (SLD) method. Extraction of kesum leave was done by maseration method, then was fractionated using n-hexane, ethyl acetate and methanol solvent. The effectiveness test was done to ethyl acetate fraction by determination at the measurement of the inhibition by clear zone. *One Way ANOVA* test at concentration 5%, 10% and 15% indicated that the 10% concentration gives the optimum inhibition and will be formulated in a gel form. Based on the test of gel A (100% Carbopol- 0% HPMC); gel B (0% Carbopol - 100% HPMC); and gel C (50% Carbopol – 50% HPMC) was obtained the best combination was Carbopol 940 100% - HPMC 0%. The data was analyzed statistically using SPSS Version 17 with signification value $p > 0,05$, the *Simplex Lattice Design* method can be used to predict the optimum formulation. While comparison with positive control was obtained the significant value $p > 0,05$ showed there was no a significant difference between optimum gel and positive control. Based on the results of the analysis with paired samples t-test was obtained significance value $p < 0,05$. This means that there was no significant inhibition difference between the ethyl acetate fraction without formulation with the ethyl acetate fraction that have been formulated into gel form. Gel of the optimum formula has a good physical and chemical properties.

Key words : Kesum leaves, Ethyl acetate fraction, Gel, *Simplex Lattice Design*

PENDAHULUAN

Tubuh manusia secara terus menerus terpapar berbagai mikroorganisme, tidak terkecuali tangan. Tangan merupakan salah satu bagian tubuh yang berperan penting. Pemakaian antiseptik tangan dalam bentuk sediaan gel menjadi salah satu pilihan utama bagi masyarakat untuk menjaga kebersihan tangan, selain praktis, sediaan antiseptik tangan yang diformulasi dalam bentuk sediaan gel memiliki beberapa keuntungan seperti kemampuan penyebarannya yang baik pada kulit, efek dingin yang ditimbulkan sesaat setelah pemakaian, mudah dicuci dengan air, tidak ada penghambatan fungsi rambut secara fisiologis dan pelepasan zat aktif oleh sediaan gel yang tergolong baik⁽¹⁾. Indonesia terutama Kalimantan Barat terkenal akan kekayaan hayatinya, beragam penelitian dilakukan dengan tujuan pengembangan potensi pemanfaatan sumber daya hayati dalam berbagai aspek kehidupan manusia. Salah satu kekayaan hayati kalimantan barat yang potensial adalah daun kesum (*Polygonum minus* Huds.). Berdasarkan penelitian, telah diketahui bahwa fraksi dietil eter dan metanol dari kesum memiliki aktivitas antimikroba dan bakteriostatik terhadap bakteri *Eschericia coli* dan *Basilus substilis*⁽²⁾. Daun kesum yang selama ini belum dimanfaatkan secara optimal dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku gel antiseptik tangan yang mempunyai kemampuan antiseptik sebagai suatu inovasi yang solutif bagi masyarakat.

Basis yang digunakan dalam sediaan gel adalah HPMC (Hidroksipropil Metilselulosa) dan karbopol 940. Salah satu metode optimasi yang dapat digunakan untuk mendapatkan formula optimum adalah *Simplex Lattice Design*. Formula yang optimal seringkali dapat diperoleh dari penerapan *Simplex Lattice Design*. Penerapan ini digunakan untuk menentukan optimasi formula pada berbagai perbedaan jumlah komposisi bahan (dinyatakan dalam beberapa bagian) yang jumlah totalnya dibuat tetap yaitu sama dengan satu bagian⁽³⁾. Penggunaan metode *Simplex Lattice Design* diharapkan dapat memperoleh formula yang optimum dari gel antiseptik tangan fraksi etil asetat daun kesum (*Polygonum minus* Huds) dengan kombinasi HPMC dan Karbopol 940.

Penelitian ini bertujuan untuk memaksimalkan penggunaan daun kesum sebagai antiseptik tangan dengan mengetahui apakah fraksi etil asetat daun kesum memiliki aktivitas antibakteri dan bagaimana efektivitasnya setelah diformulasi menjadi sediaan gel terhadap bakteri *Eschericia coli* serta mengetahui kombinasi Optimum dari basis sediaan gel yaitu HPMC dan Karbopol 940

yang dihubungkan dengan efektivitas gel menggunakan metode *Simplex Lattice Design* (SLD).

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah bejana maserasi, *rotary evaporator* (Yamato), oven (Mettler UP 400), timbangan analitik (Ohaus PA2102), *viscometer stromer* (Krebs BGD 4183), pH meter (Hanna HI 98107), autoklaf (HL 36 Ae), inkubator dan shaker.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun kesum (*Polygonum minus* Huds.), Karbopol 940, HPMC, trietanolamin, natrium metabisulfid, *nutrient agar*, sediaan gel antiseptik Dettol : bahan aktif alkohol 60%.

Cara Kerja

Ekstraksi Daun Kesum

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Simplisia daun kesum yang telah halus sebanyak 3160 g dimasukkan kedalam bejana maserasi dan dilakukan maserasi dengan menggunakan pelarut metanol teknis sampai seluruh simplisia terendam. Total pelarut yang dipakai adalah 95 L. Perendaman dilakukan selama 5 hari, sekali-kali diaduk dengan pergantian pelarut sebanyak 1 kali selama 24 jam. Ekstrak dipekatkan dengan *rotary evaporator* vakum.

Fraksinasi

Ekstrak metanol daun kesum diencerkan dengan pelarut metanol (4 x bobot ekstrak), dimasukkan dalam corong pisah kemudian difraksinasi secara berturut-turut menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan metanol. Fraksinasi dilakukan sebanyak 3 kali untuk tiap fraksi dengan menggunakan 40 mL pelarut untuk sekali penyarian. Selanjutnya fraksi etil asetat hasil fraksinasi dipekatkan menggunakan *water bath* hingga didapatkan fraksi etil asetat kental daun kesum.

Skrining Fitokimia

Pemeriksaan Alkaloid

Fraksi ditambahkan 1 ml HCl 2N dan 6 ml akuades, kemudian disaring. Hasil penyaringan ditambah 5 tetes pereaksi Dragendorff. Endapan berwarna jingga menunjukkan adanya alkaloid⁽⁴⁾.

Pemeriksaan Tanin

Beberapa tetes larutan FeCl_3 5% ditambahkan kedalam 1 ml larutan fraksi. Perubahan warna menjadi biru tua menunjukkan keberadaan tanin⁽⁴⁾.

Pemeriksaan Steroid dan Terpenoid

Fraksi ditambahkan dengan 1 mL CH_3COOH glasial dan 1 ml larutan H_2SO_4 pekat. Jika warna larutan berubah menjadi biru atau ungu, menandakan adanya kelompok senyawa steroid, jika warna larutan berubah menjadi merah menunjukkan adanya kelompok senyawa triterpenoid⁽⁴⁾.

Pemeriksaan Flavonoid

Larutan fraksi sebanyak 1 ml ditambah dengan sedikit serbuk magnesium sebanyak 1 gram dan larutan HCl pekat. Perubahan warna larutan menjadi warna kuning menandakan adanya flavonoid⁽⁴⁾.

Identifikasi Saponin

Fraksi ditambahkan 10 ml air, setelah itu didinginkan dan dikocok secara kuat selama 10 menit sehingga terbentuk buih. Buih yang terbentuk menunjukkan adanya saponin⁽⁴⁾.

Penyiapan Sampel Uji Aktivitas Fraksi Etil Asetat Daun Kesum

Fraksi etil asetat dibuat dengan variasi konsentrasi 5%, 10%, dan 15%. Pembuatan variasi dilakukan menggunakan larutan stok 20%. Larutan stok dibuat dengan cara melarutkan 5 g fraks daun kesum dalam metanol *pro analysis* (pa) 25 mL.

Sterilisasi Alat Dan Bahan-bahan

Sterilisasi alat dan bahan dengan cara menutup alat-alat yang akan disterilkan dengan *aluminium foil* atau kapas. Dimasukkan ke dalam autoklaf dan diatur pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi (*per square inch*).

Pembuatan Media Nutrisi Agar (NA)

Formulasi media NA per liter adalah 5 gram bacto pepton, 3 gram *beef extract*, 5 gram NaCl dan 15 gram bacto agar. Sebanyak 23 gram NA dilarutkan dalam 1 liter akuades. Lalu dihomogenkan dengan menggunakan *magnetic stirrer* sambil dipanaskan. Media ini disterilkan menggunakan autoklaf pada tekanan 1,5 atm, 121°C selama 15 menit⁽⁵⁾.

Pembuatan Suspensi Bakteri

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan secara aseptis dengan cara koloni bakteri uji pada media peremajaan yang berumur 24 jam diambil dengan menggunakan jarum ose dan disuspensikan ke dalam tabung berisi 5 mL larutan NaCl steril 0,9%. Kekeruhan yang diperoleh kemudian disetarakan dengan Standar Mc. Farland 0,5 yaitu setara dengan jumlah pertumbuhan 1×10^8 sel bakteri/mL⁽⁶⁾.

Uji Daya Antiseptik Fraksi Etil Asetat Daun Kesum

Pengujian aktivitas fraksi etil asetat daun kesum dilakukan dengan menggunakan metode *disc diffusion* (tes Kirby-Bauer). Cakram kertas berukuran 6 mm yang telah direndam dengan fraksi etil asetat daun kesum ditempatkan diatas permukaan media. Kontrol negatif yang digunakan adalah metanol *pa*. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam kemudian diamati zona hambat yang terbentuk yang diinterpretasikan dengan melihat daerah bening disekitar cakram yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri⁽⁶⁾. Konsentrasi yang memberikan hasil diameter zona hambat yang terbaik digunakan untuk optimasi dengan metode *Simplex Lattice Design* (SLD).

Penentuan Formula Gel Fraksi Etil Asetat Daun Kesum dengan metode Simplex Lattice Design

Penentuan formulasi optimum komposisi HPMC dan Karbopol 940 diperoleh dari analisis efektivitas gel masing-masing formula menggunakan metode *Simplex Lattice Design*. Formulasi optimum dapat ditentukan dengan melihat nilai Y dari analisis data persentase efektivitas masing-masing gel menggunakan persamaan :

$$Y = a(A) + b(B) + ab(AB) \dots \dots \dots (\text{Persamaan 1})$$

Keterangan :

Y = Respon Efektivitas

a, b, ab = Koefisien yang didapat dari percobaan

(A), (B) = Fraksi komponen dengan syarat: $0 \leq (A) \leq 1, 0 \leq (B) \leq 1, (A+B)=1$

Nilai Y yang paling besar menunjukkan formula dengan perbandingan komposisi Karbopol 940 dan HPMC yang memberikan efektivitas antimikroba terbaik. Untuk dua variabel bebas A dan B yang terkait dengan SLD yaitu mencari koefisien a, b, dan ab dari persamaan diatas. Berdasarkan persamaan, maka perlu dilakukan penelitian menggunakan tiga formula.

Pembuatan gel fraksi etil asetat daun kesum seperti tabel 1 menggunakan kombinasi Karbopol 940-HPMC dengan jumlah total kedua kombinasi adalah 0,5 g.

Tabel 1. Formula Gel Fraksi Etil Asetat Daun Kesum

Bahan	Gel A (g)	Gel B (g)	Gel C (g)	Kontrol Negatif (g)
Fraksi etil asetat	X	X	X	0
Karbopol 940	0,5	0	0,25	0,25
HPMC	0	0,5	0,25	0,25
TEA	0,25	0,25	0,25	0,25
Gliserin	5	5	5	5
Na.	0,1	0,1	0,1	0,1
Metabisulfit				
Aquadest ad.	50	50	50	50

Keterangan :

X = Jumlah fraksi yang digunakan

TEA = Trietanolamina

Pembuatan Formulasi Gel Optimum Fraksi Etil Asetat Daun Kesum

Basis gel (Karbopol 940 dan atau HPMC) dikembangkan dengan aquades panas (bagian pertama). Natrium metabisulfit dilarutkan dalam sebagian gliserin. Kemudian campurkan ekstrak metanol daun kesum ke dalam campuran. Tambahkan trietanolamin, kemudian dimasukkan sisa gliserin dan diaduk hingga homogen (bagian kedua). Masukkan campuran bagian kedua tersebut ke dalam basis yang telah dikembangkan (bagian pertama). Kemudian masukkan sisa aquades, diaduk hingga membentuk massa gel yang homogen⁽⁷⁾.

Uji Efektivitas Gel Optimum Fraksi Etil Asetat Daun Kesum

Formula optimum HPMC dan Karbopol yang ditentukan dengan metode *Simplex Lattice Design*, kemudian diuji efektivitas nya terhadap kontrol positif dan negatif. Pengujian dilakukan untuk verifikasi persamaan *Simplex Lattice Design* dan mendapatkan nilai persentase efektivitas gel antiseptik optimum yang dibandingkan dengan kontrol negatif dan kontrol positif. Pengujian efektivitas gel dilakukan dengan menggunakan metode *disc diffusion* (tes Kirby-Bauer).

Evaluasi Sediaan

Evaluasi fisik meliputi pengamatan organoleptis, pengukuran daya sebar, pengukuran daya lekat, dan pengukuran viskositas, sedangkan evaluasi kimia adalah pengukuran pH⁽⁸⁾

Analisis Data

Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan kualitas gel maka data tersebut kemudian dianalisis dengan [*One Way ANOVA (Analysis of Varians)*] karena uji ini dapat digunakan untuk uji hipotesis komparatif variabel numerik berdistribusi normal, lebih dari dua kelompok dan uji-t menggunakan perangkat lunak SPSS. Uji *One Way ANOVA (Analysis of Varians)* digunakan untuk mengetahui nilai signifikansi antara persentase aktivitas fraksi etil asetat Daun kesum (*Polygonum minus* Huds.), sedangkan uji t digunakan untuk mengetahui nilai signifikansi antara : (1) persentase efektivitas antiseptik formula optimum teoritis dengan percobaan, menggunakan *one sample t- test*, (2) persentase efektivitas antiseptik formula optimum percobaan dengan kontrol positif, menggunakan *independent sample t- test*, (3) persentase efektivitas antiseptik formula optimum percobaan dengan fraksi etil asetat daun kesum, menggunakan *paired sample t- test*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pengolahan dan Pemeriksaan Karakteristik Sampel

Sampel dalam penelitian ini berupa daun kesum. Sampel daun kesum diidentifikasi di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Tanjungpura Pontianak. Proses ekstraksi daun kesum dilakukan dengan metode maserasi. Pelarut yang digunakan untuk maserasi adalah metanol. Metanol digunakan karena merupakan pelarut yang bersifat universal sehingga diharapkan mampu melarutkan seluruh komponen metabolit yang terdapat pada daun kesum terutama komponen polar seperti golongan fenolik, flavonoid dan tanin⁽⁹⁾. Selanjutnya dilakukan fraksinasi, Tujuan dari dilakukannya fraksinasi adalah melakukan pemisahan senyawa kimia sesuai dengan tingkat kepolarannya.

Skrining fitokimia dilakukan pada fraksi etil asetat daun kesum untuk mengetahui senyawa-senyawa aktif yang terdapat dalam fraksi tersebut. Berdasarkan skrining fitokimia fraksi etil asetat daun kesum, diketahui bahwa fraksi etil asetat mengandung komponen metabolit sekunder seperti tanin, alkaloid, flavonoid, triterpenoid dan saponin. Komponen metabolit sekunder ini diduga memiliki aktivitas antibakteri⁽¹⁰⁾. Tanin berperan sebagai antibakteri melalui pembentukan kompleks dengan enzim mikroba atau substrat, selain itu tanin masuk melalui membran mikroba, untuk mencapai membran tanin harus melewati dinding sel mikroba.

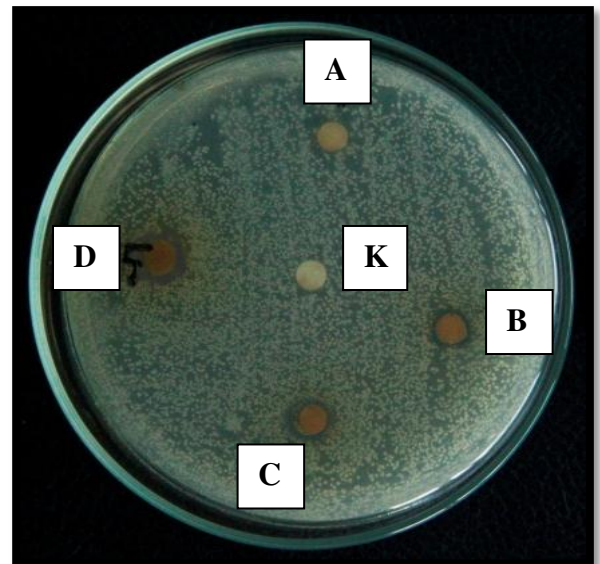
Flavonoid bekerja sebagai antimikroba dengan cara membentuk kompleks dengan protein ekstrasel dan dinding sel bakteri. Selain itu flavonoid yang bersifat lipofilik dapat merusak membran sel mikroba. Aktivitas antibakteri terpenoid tidak sepenuhnya diketahui, namun diduga senyawa ini bekerja pada pengrusakan membran oleh senyawa lipofilik. Alkaloid berperan sebagai antibakteri dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan yang menyebabkan lapisan dinding sel tidak terbentuk sehingga berdampak pada kematian sel⁽¹¹⁾.

Ekstrak dan fraksi yang didapat kemudian diuji susut pengeringan. Persentase susut pengeringan ekstrak metanol yaitu 24,64%, sedangkan persentase susut pengeringan fraksi etil asetat sebesar 24,99%. Ekstrak/fraksi ini termasuk dalam ekstrak/fraksi kental, hal ini dikarenakan persentase susut pengeringan ekstrak termasuk dalam rentang ekstrak kental yaitu 5-30%⁽¹⁾.

Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Kesum

Uji aktivitas fraksi etil asetat dilakukan menggunakan beberapa konsentrasi, diantaranya 5%, 10% dan 15% dan kontrol negatif. Bakteri yang digunakan adalah *Eschericia coli*, hal ini dikarenakan bakteri *Eschericia coli* adalah bakteri yang menyebabkan sebagian besar penyakit saluran pencernaan yang penularannya melalui tangan. Pada penelitian ini terdapat 4 kelompok percobaan, yaitu kontrol negatif (metanol *pa*), fraksi etil asetat dengan 3 variasi konsentrasi (5%, 10% dan 15%).

Kontrol negatif merupakan metanol *pa* yang mengencerkan fraksi menjadi beberapa konsentrasi. Uji aktivitas dilakukan dengan metode *disc diffusion* Kirby-Bauer. Hasil pengujian dapat dilihat pada gambar 1.



Keterangan : A = Konsentrasi fraksi etil asetat 1%, B = Konsentrasi fraksi etil asetat 5%, C = Konsentrasi fraksi etil asetat 10%, D = Konsentrasi fraksi etil asetat 15%, K = Kontrol negatif.

Metode *disc diffusion* Kirby-Bauer mewakili prosedur sederhana untuk menyelidiki aktivitas antimikroba dari suatu zat. Hasil dari pengujian ini dilihat melalui zona hambat.

Tabel 2. Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat

No.	Konsentrasi Fraksi	Diameter Daya Hambat			\bar{X}	SD
		Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III		
1.	5 %	6,5 mm	7 mm	8 mm	7,17 mm	0,763763
2.	10 %	7 mm	9 mm	10 mm	8,67 mm	1,527525
3.	15 %	9 mm	10 mm	11 mm	10 mm	1
4.	Kontrol negatif	-	-	-	-	-

Keterangan : tanda (-) tidak terbentuk zona hambat

Hasil pengukuran zona hambat fraksi etil asetat daun kesum dapat dilihat pada tabel 2. Berdasarkan pengujian statistik menggunakan program SPSS *One Way ANOVA*, konsentrasi 10% diputuskan untuk digunakan dalam pembuatan gel optimum karena tidak berbeda signifikan dengan konsentrasi 5% dan 15%.

Hasil Optimasi dan Uji Efektivitas Gel Fraksi Etil Asetat Daun Kesum

Gel dibuat menjadi 3 formula, formula A untuk 100% Karbopol 940 – 0% HPMC, formula B untuk 0% Karbopol 940 – 100% HPMC dan Formula C untuk 50% Karbopol 940 – 50% HPMC. Bahan tambahan yang digunakan dalam pembuatan gel berpengaruh terhadap stabilitas fisik sediaan. Besarnya proporsi dari masing-masing bahan tambahan ini perlu dioptimasi agar dihasilkan sediaan gel dengan sifat-sifat fisik yang diharapkan. Salah satu metode yang dapat digunakan untuk optimasi adalah SLD. Metode tersebut dapat digunakan untuk optimasi formula pada berbagai jumlah komposisi bahan yang berbeda. Metode ini mempunyai keuntungan praktis dan cepat karena tidak merupakan penentuan formula dengan coba-coba (*trial and error*)⁽³⁾. Masing-masing gel ini diuji efektivitas antibakterinya terhadap *Escherichia coli* dengan membandingkan dengan kontrol negatif berupa basis dari masing masing gel tersebut. Tiap gel memiliki konsentrasi yang sama yaitu 10%.

Berdasarkan hasil persentase efektivitas gel pada tabel 3 terlihat bahwa nilai efektivitas antibakteri dalam sediaan gel meningkat pada formulasi GEL A (100% Karbopol 940)

dibandingkan nilai efektivitas antibakteri fraksi. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi yang diformulasikan menjadi bentuk sediaan gel dapat meningkatkan efektivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*. GEL B (100% HPMC) tidak memberi daya hambat dikarenakan konsentrasi 1% HPMC yang digunakan tidak mengembang membentuk masa gel dan konsistensinya cair. Mekanisme pembentukan gel oleh golongan sintetik dan derivat selulosa disebabkan adanya interaksi antara polimer-pelarut atau terjadi penggabungan antara molekul polimer yang menyebabkan jarak antar partikel menjadi kecil dan terbentuk ikatan silang antar molekul yang jumlahnya makin lama makin banyak. Ikatan silang antar molekul akan mengurangi mobilitas pelarut dan terbentuk massa gel. Ikatan yang terbentuk ini akan memerangkap zat aktif sehingga pada saat penggunaan dapat dilepaskan melalui gel⁽¹²⁾. Berdasarkan penjelasan tersebut, maka HPMC yang tidak membentuk massa gel tidak memerangkap zat aktif, sehingga pada saat kertas cakram yang digunakan dalam pengujian antibakteri metode *disc diffusion* direndam didalam gel, kertas cakram tidak dapat menyerap zat aktif secara baik sehingga berpengaruh pada konsentrasi zat aktif yang terserap pada kertas cakram. Bakteri *Escherichia coli* memiliki lapisan dinding sel yang dilapisi oleh membran luar yang terdapat protein, fosfolipid, lipopolisakarida dan ruang periplasmik⁽¹³⁾. Hal ini menyebabkan zat aktif akan sulit untuk menembus lapisan membran bakteri dan zat aktif membutuhkan kontak yang lama untuk dapat berpenetrasi kedalam lapisan membran bakteri *Escherichia coli*.

Tabel 3. Hasil Uji Efektivitas Gel Fraksi Etil Asetat Daun Kesum (*Polygonum minus* Huds.)

Diameter Daya Hambat	Keterangan		
	GEL A	GEL B	GEL C
I	16 mm	-	10 mm
II	15 mm	-	12 mm
III	17 mm	-	-
Rata- rata	16 mm	0	7,3 mm

Keterangan : tanda (-) berarti tidak terdapat daya hambat

Hasil Formulasi dan Uji Efektivitas Gel Optimum Fraksi Etil Asetat Daun Kesum

Tujuan utama dari formulasi gel optimum adalah untuk mendapatkan suatu sediaan yang baik dengan daya efektivitas yang paling tinggi, verifikasi dengan hasil perhitungan metode *Simplex Lattice Design*, dan membandingkan efektivitas antibakteri gel dengan sediaan yang beredar dipasaran. Data yang diperoleh dari pengujian diatas berfungsi untuk mendapatkan nilai koefisien a, b, dan ab dalam persamaan berdasarkan *Simplex Lattice Design*. Nilai Y yang paling besar menunjukkan formula dengan perbandingan komposisi Karbopol 940 dan HPMC yang memberikan efektivitas antibakteri terbaik. Persamaan polinomial untuk efektivitas antibakteri yang didapatkan tertera pada persamaan 2 dan 3

$$Y = a (A) + b (B) + ab (AB) \dots \dots \dots (\text{Persamaan 2})$$

$$Y = 16 (A) + 0 (B) - 2,8 (AB) \dots \dots \dots (\text{Persamaan 3})$$

Keterangan :

Y = Respon Efektivitas

a, b, ab = Koefisien yang didapat dari percobaan

(A) = Fraksi komponen Karbopol 940

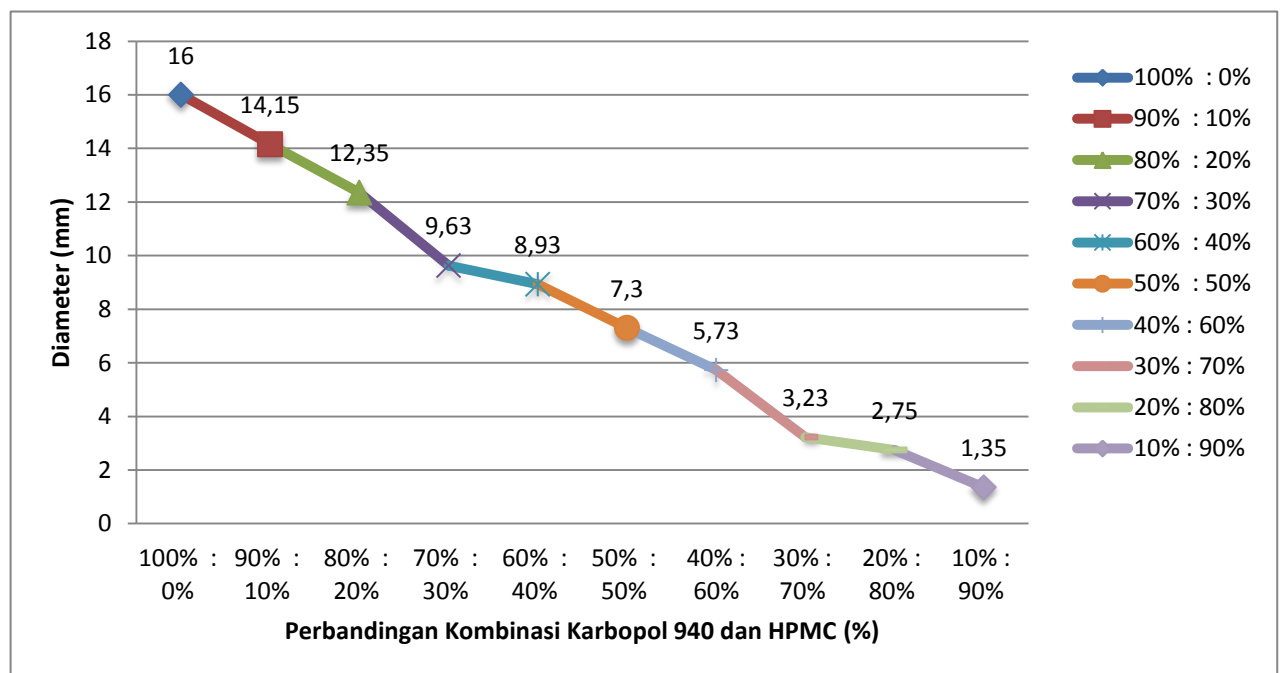
(B) = Fraksi Komponen HPMC

Pada penelitian ini dipilih formula 100% Karbopol 940 : 0% HPMC sebagai formula optimum dengan nilai Y yang paling besar yaitu 16 mm.

Profil efektivitas gel yang diperoleh dari penelitian dengan menggunakan persamaan *Simplex Lattice Design* dapat dilihat pada gambar 2.

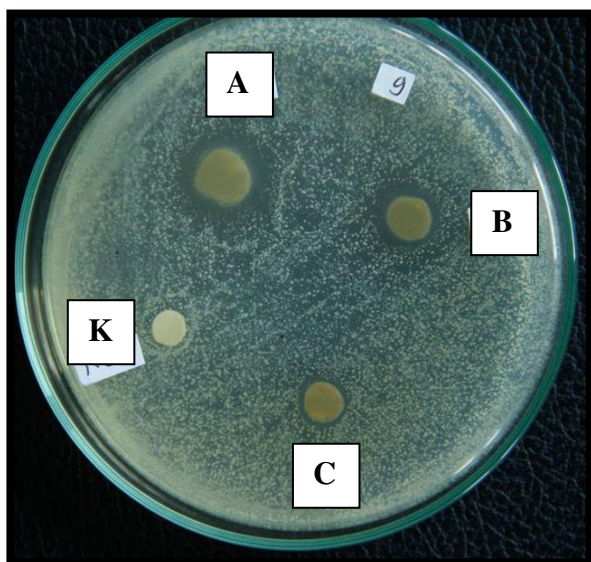
Berdasarkan persamaan dan profil efektivitas yang dapat dilihat pada Gambar 2 diketahui bahwa karbopol 940 memiliki pengaruh sangat besar terhadap efektivitas antibakteri gel fraksi etil asetat daun kesum dibandingkan HPMC.

Adapun komposisi yang dibuat adalah 100% karbopol 940 : 0% HPMC. Ada 3 jenis pengujian efektivitas antibakteri gel optimum, yaitu (1) pengujian efektivitas gel optimum terhadap persamaan *Simplex Lattice Design*, (2) pengujian efektivitas gel optimum terhadap sediaan gel antiseptik tangan yang beredar dipasaran dan (3) pengujian gel optimum terhadap fraksi etil asetat.



Gambar 2. Profil Efektivitas Daya Hambat Gel dengan Variasi Karbopol 940 dan HPMC
Keterangan : Semakin kekanan, persentase karbopol semakin meningkat.

Hasil uji efektivitas (tabel 4) yang dilakukan dengan pengulangan sebanyak 3 kali menunjukkan bahwa rata-rata efektivitas adalah 11 mm, sedangkan nilai efektivitas daya hambat secara teoritis pada perhitungan metode *Simplex Lattice Design* adalah 16 mm. Hasil pengujian gel optimum dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Uji aktivitas Gel Optimum

Keterangan : A = Replikasi I ; B = Replikasi II ; C = Replikasi III ; K = Kontrol negatif.

Ketiga data tersebut kemudian dilakukan uji statistik dengan uji *one sample t-test* menggunakan perangkat lunak SPSS seri 17. Hasil efektivitas perlakuan dibandingkan dengan efektivitas prediksi atau teoritis. Berdasarkan hasil uji *one-sample t test* antara nilai efektivitas hasil percobaan sebenarnya dengan efektivitas prediksi *Simplex Lattice Design* didapatkan bahwa nilai signifikansi adalah $p > 0,05$ sehingga H_0 diterima. Hal ini berarti bahwa persamaan yang diperoleh dari perhitungan *Simplex Lattice Design* dapat dijadikan metode untuk memprediksikan secara teori penggunaan kombinasi karbopol 940 dan HPMC, dimana hasil percobaan memberikan nilai yang tidak berbeda jauh dari prediksi.

Pengujian pada kelompok kedua dilakukan untuk melihat perbandingan efektivitas antara gel optimum dan Dettol. Pengujian dilakukan dengan uji t sampel bebas menggunakan SPSS seri 17. Berdasarkan besarnya diameter daya hambat pada pengujian gel optimum dengan Dettol dapat dilihat bahwa gel optimum memberikan daya hambat yang lebih besar dibandingkan Dettol. Berdasarkan uji t dengan asumsi varian sama didapatkan nilai signifikansi adalah $p > 0,05$, sehingga dapat disimpulkan bahwa efektivitas antibakteri pada gel optimum dan Dettol tidak berbeda signifikan. Dari

data ini menunjukkan bahwa gel optimum fraksi etil asetat daun kesum telah memenuhi standar dari segi efektivitas sebagai gel antiseptik tangan. Hasil perbandingan uji aktivitas antimikroba antara gel optimum dan Dettol dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Efektivitas Perbandingan Gel Optimum Daun Kesum (*Polygonum minus* Huds.) terhadap Dettol ($\bar{X} \pm SD$)

Keterangan	Diameter Daya Hambat (mm)
Gel Optimum	11 ± 4
Dettol	10 ± 1

Keterangan : \bar{X} = Rata-rata pengukuran diameter daya hambat dari tiga kali pengulangan, SD = Standar Deviasi.

Pengujian ketiga dilakukan terhadap gel optimum dengan fraksi etil asetat. Uji dilakukan menggunakan *paired-sample t test* karena melibatkan dua pengukuran pada subjek yang sama terhadap suatu pengaruh perlakuan tertentu.

Berdasarkan hasil analisis dengan *paired-sample t test* diperoleh nilai signifikansi adalah $p > 0,05$ sehingga H_0 diterima. Hal ini berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara fraksi etil asetat sebelum diformulasi dengan fraksi etil asetat yang telah diformulasi dalam bentuk sediaan gel.

Evaluasi yang dilakukan adalah secara fisik dan kimia terhadap gel optimum. Evaluasi fisik dan kimia dilakukan untuk memberikan gambaran secara umum tentang sifat fisik dan kimia sediaan gel optimum fraksi etil asetat daun kesum (*Polygonum minus* Huds.). Evaluasi fisik meliputi pengamatan organoleptis, pengukuran daya sebar, pengukuran daya lekat, dan pengukuran viskositas, sedangkan evaluasi kimia adalah pengukuran pH.

Pengamatan organoleptis bertujuan untuk mengetahui gambaran sifat fisik awal gel melalui bau, warna, dan homogenitas. Pengamatan daya sebar bertujuan untuk melihat kemampuan gel menyebar pada permukaan kulit sehingga dapat mengetahui penyebaran zat aktif yang dikandung dalam gel di kulit. Viskositas merupakan suatu parameter yang menunjukkan kekentalan dari suatu bahan yang diukur dengan menggunakan alat viskometer. Tujuan pengukuran viskositas ini adalah untuk mengetahui seberapa besar konsistensi dari sediaan. Hal ini berkaitan dengan kemampuan sediaan untuk dapat mengalir yang akan mempengaruhi daya sebar dan daya lekat sediaan ketika digunakan pada kulit, juga mempengaruhi kenyamanan saat digunakan.

Pengukuran terhadap daya lekat dari sediaan bertujuan untuk mengetahui kemampuan sediaan bertahan pada kulit yang berkaitan dengan ketahanan zat aktif pada kulit. Sedangkan pengukuran pH bertujuan untuk mengetahui apakah sediaan yang dihasilkan dapat diterima pH kulit atau tidak karena hal ini berkaitan dengan keamanan dan kenyamanan sediaan ketika digunakan. Apabila tidak sesuai dengan pH kulit maka sediaan dapat menyebabkan iritasi yang mengakibatkan ketidaknyamanan dalam penggunaan. pH yang didapat adalah 4,7. Nilai ini dapat diterima oleh kulit karena masih dalam rentang pH kulit sebesar 4,5-6,5.

KESIMPULAN

Fraksi etil asetat daun kesum (*Polygonum minus* Huds.) dapat memberikan aktivitas antibakteri terhadap *Eschericia coli*. Konsentrasi fraksi etil asetat daun kesum (*Polygonum minus* Huds.) sebesar 10% dapat memberikan efek antibakteri optimum terhadap *Eschericia coli*. Metode *Simplex Lattice Design* dapat digunakan untuk memprediksi pengaruh dari basis Karbopol 940 dan HPMC terhadap sifat fisika dan kimia gel. Komposisi optimum Karbopol 940 dan HPMC yang memberikan efektivitas antibakteri terbaik yaitu 100% Karbopol 940.

DAFTAR PUSTAKA

- Voigt, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Penerjemah Dr. Soendani Noerono. Edisi Kelima. Gadjah Mada University Press: Yogyakarta. Hal : 165, 179, 222.
- Wibowo, MA. 2007. Uji antimikroba fraksi etil asetat dan dietil eter daun tanaman kesum. *Agripura*. 3(2): 410-414.
- Bolton, S. 1997. *Pharmaceutical Statistic Practical and Clinical Application*, Third Edition, Marcel Dekker inc. New York, page 611- 619.
- Lailatul L.K., Kadarohman, A., dan Eko, R.. 2010. Efektivitas Biolarvasida Ekstrak Etanol Limbah Penyulingan Minyak Akar Wangi (*Vetiveria zizanoidess*) terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*, *Culex sp.* An *Anopheles sundaicus*. *Jurnal Sains dan Teknologi Kimia*. 1(1) : 60-61.
- Dwijoseputro. 1994. *Dasar – Dasar Mikrobiologi*. Penerbit Djambatan, Jakarta.
- ICMR. 2009. Detection of Antimicrobial Resistance in Common Gram Negative and Gram Positive Bacteria Encountered in Infectious diseases- An Update. *ICMR Bulletin*. (39) : 1-3. ISSN 0377-4910.
- Sari, R. dan Isadiartuti, D. 2006. Studi Efektivitas Sediaan Gel Antiseptik Tangan Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* Linn). *Indonesian J. Pharm*. 17(4) : 163-169.
- Gozali, D., Abdassah, M., Subghan, A., Al Lathiefah, S. 2009. Formulasi Krim Pelembab Wajah yang Mengandung Tabir Surya Nanopartikel Zink Oksida Salut Silikon. *Jurnal Farmaka*. 7(1) : 37-47
- Wibowo, M.A., Anwari, M.S., Aulanni'am, dan Rahman, F. 2009. Skrining Fitokimia Fraksi etil asetat, Dietil- eter dan n- Heksana Ekstrak Daun Kesum (*Polygonum minus* Huds.). *Agripura*. 16(4) : 56-58
- Poeloengan, M., Chairul, Komala, I., Salmah S., M.N, Susan. 2006. Aktivitas Antimikroba dan Fitokimia Dari Beberapa Tanaman Obat. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*. Hal : 974-978
- Cowan, M. 1999. Plant Product as Antimicrobial Agent. *Clinical Microbiology Reviews*. 12 (4). Hal: 564-582.
- Swarbrick, J and Boylan, J.C. 1992. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. Volume VI. Marcell Dekker Inc. New York. USA. Page 404-407.
- Brooks, G. F., J. S. Butel dan S. A. Morse. 2007. *Jawetz, E., J. Melnick, L. Adelberg, E.A. Microbiologi Kedokteran*, Edisi 23. Terjemahan Huriati dan Hartanto. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.